

|             |   |
|-------------|---|
| Title       | 脳外傷に対する核酸誘導物質の応用：特に Cytidine Nucleotide の治療効果について                                 |
| Author(s)   | 近藤, 之   |
| Citation    | 日本外科宝函 (1963), 32(4): 489-505   |
| Issue Date  | 1963-07-01  |
| URL         | <a href="http://hdl.handle.net/2433/205543">http://hdl.handle.net/2433/205543</a> |
| Right       |   |
| Type        | Departmental Bulletin Paper   |
| Textversion | publisher   |

# 脳外傷に対する核酸誘導物質の応用

——特に Cytidine Nucleotide の治療効果について——

京都大学医学部外科学教室第一講座（指導：荒木千里教授）

近 藤 祐 之

（原稿受付 昭和38年3月30日）

## EXPERIMENTAL STUDY ON THE THERAPEUTIC USE OF CYTIDINE NUCLEOTIDES FOR THE BRAIN INJURY

by

YUSHI KONDO

From the 1st Surgical Division, Kyoto University Medical School

(Director : Prof. Dr. CHISATO ARAKI)

This study was made to examine the possible therapeutic use of Nucleotides for the brain injury and following cerebral swelling.

It became possible, under EEG control, to produce brain damage of almost identical degree in cats by the epidural cerebral compression.

On the brain-damaged animals thus produced, pathological, pathophysiological and biochemical studies were carried out. It had been found through the biochemical study conducted by OZAWA that phospholipids of the brain, especially lecithin and cephalin, decreased markedly after brain damage and the decrease of phospholipids run almost parallel to the symptoms of the animal especially to the consciousness disorder<sup>16)</sup>.

Here, then, the therapeutic application of Cytidine-Nucleotide especially of CDP-choline, which is essential co-enzyme for biosynthesis of lecithin, was tried for the brain-damaged animals.

Injection of CDP-choline, either intracarotid or intravenous, to the cats with subacute brain damage resulted in marked improvement of consciousness level, clinical symptoms and EEG findings. Especially, the effect was rather dramatic in the animals whose consciousness disorder was of moderate degree.

Intracarotid injection of CMP was also effective.

The effect of CDP-choline upon the survival rate of the brain-damaged cats was compared that of many conventional therapeutic methods for brain injury.

Experimental animals were divided into five groups and in each, following treatments were given respectively one hour after brain damage.

- 1) Oxygen inhalation.
- 2) Therapeutic hypothermia.
- 3) Injection of CDP-choline.

4) Injection of CDP-choline with hypothermia.

5) Injection of CDP-choline with osmotherapy by intravenous injection of 50% glucose solution.

In Group 2 and Group 4 fairly good results were obtained in the survival rate during the one week observation after brain damage. Also the promising result was obtained in Group 3 in which only CDP-choline was administrated. In Group 5, however, no favorable effect was noticed.

Our conclusion is that Cytidine-Nucleotides may well be used as an effective drug for the treatment of severe brain injury.

## 結 言

従来より、頭部外傷及びこれに引続いて発生する脳浮腫に関する実験的研究は、数多く行なわれ、幾多の成果が報告されて来た。しかし、実際に行なわれている頭部外傷患者の治療法は、頭蓋内血腫の除去や頭蓋内異物摘出等の手術的療法を除くと、依然として安静を中心とした保存的療法が主体となつてゐる。

最近重症頭部外傷患者に対し、低体温法や人工冬眠法が適用され、優秀な治療効果を挙げ得たとする報告もあるが、その成績は諸家によつて必ずしも一様ではない。頭部外傷に対する新しい治療法を見出さんとする努力はこの他にも二三行なわれて来たが、何れもさして良好な成績を挙げ得るに到らなかつた様である。

最近、共同研究者の小沢は、硬膜外脳圧迫法による脳損傷動物の脳について、生化学的变化を逐時的に追求した結果、脳損傷時に脳磷脂質が減少する事を見出し、更に lecithin 合成の補酵素たる Cytidine 系 Nucleotide の投与が、脳損傷動物に対し有効に作用するのではないかと予測をたてた<sup>16)</sup>。

本研究においては、この Cytidine nucleotide の脳損傷に対する治療効果を検討し、更にこれを従来から行なわれている諸方法の成績と対比して、新しい脳外傷治療法を樹立せんと意図した。

## 実験動物及び実験方法

実験動物；体重 2.5～4 kg の成熟雄種ネコ。

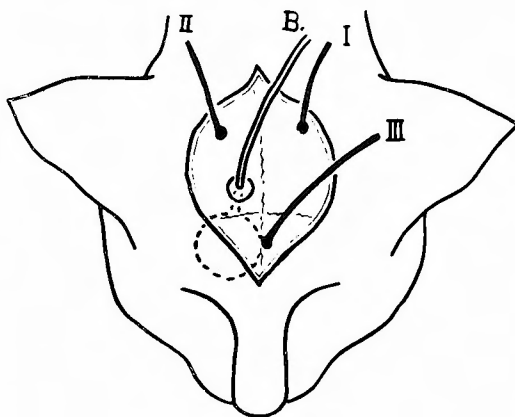
実験方法；

### 1) 脳損傷作製の方法

#### a) 脳圧迫の手法

エーテル吸入麻酔のもとで頭皮に正中切開を加え、右頭頂部に直径 5 mm の骨窓を開く。ポリエチレン管を連結したゴム球を硬膜外腔に挿入し、右前頭葉上に位置せしむ。骨窓は骨片及び骨蠟を用いて再び閉じる。次で前頭部正中線と両側の頭頂後頭部対称点上に

おいて、頭蓋骨に電極を装着、更にこれ等電極の絶縁の目的をも兼ねて先の骨窓と共にレジンで一塊として固定する。これらの手術操作はすべて無菌的に行なう。(第1図)



第 1 図

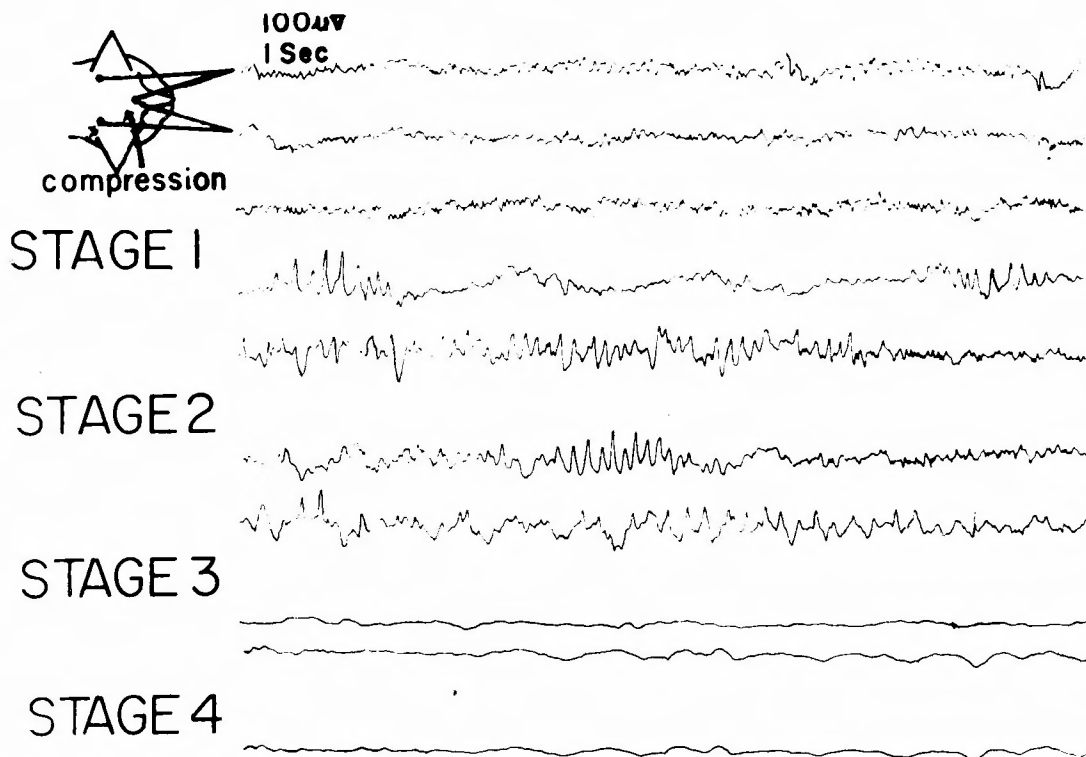
I. II. III. .... 電 極  
B. .... ゴ ム 球

動物が麻酔より覚醒するのを待ち、表面脳波を連続的に記録しつつ、ポリエチレン管を通じ 1 分間 0.1 cc 以下の速度で、断続的に生理的食塩水をゴム球内に注入する。ゴム球内容が増し脳圧迫の程度が増強するにつれて、脳波の pattern が一定の順序で変化して来るのを知つたが、これは第2図に示す通りである。

即ち、最初は低振幅速波を主体とする脳波が見られるが、圧迫が進むにつれて圧迫側に高振幅徐波或いは紡錘波が出現し始め、次第にその出現頻度を増して来る。これを Stage 1 と名付ける。

更に圧迫が進むと、非圧迫側においても圧迫側と同様、高振幅徐波或いは紡錘波が出現する。これを Stage 2 とする。

圧迫が更に強度となると、徐波は更に周波数を減じ、



第 2 図

やがて圧迫側の脳波は flat となる。これを Stage 3 とする。

この状態、即ち Stage 3 はしばしば欠如する事があり、直ちに両側共脳波が flat となる Stage 4 に移行する。

経験的に、Stage 1 に達するに要するゴム球内容量は 1.0~1.4cc, Stage 2 に達するには 1.8~2.0cc, そして Stage 4 に達するには 2.8~3.0cc 以上を要する。

脳圧迫が進むにつれて現われる動物の症状は、大体 Stage 2 に入る前後で圧迫側の瞳孔散大、角膜反射の低下等がおこり、Stage 2 より Stage 3 にかけて両側瞳孔散大、角膜反射消失、呼吸の変調、筋強直等が起つて来る。Stage 4 では深い昏睡状態となり、呼吸停止、時には痙攣発作等がおこる。

Stage 4 に達しても直ちにゴム球内容を排除すると、脳波は通常短時間内に再び出現し、低振幅徐波、高振幅徐波を経て次第に速波成分を混ざる様になる。

この様な脳波上の変化、特にその階段的推移を利用すると、任意の強さの脳圧迫を目的に応じ自由に作ることが出来るが、本実験では次ぎに述べる 2 つの強さの圧迫を用いて脳損傷を作製する事とした。

#### b) 亜急性性脳損傷ネコ及び脳浮腫ネコ作製の方法。

脳波上 Stage 2 に達する点までゴム球を膨らませる。そしてゴム球内容をそのまま或いは、症状の重篤さによつてごく少量減量する事もあるが、出来るだけ Stage 2 に近い状態にとどめて留置し、こうした状態で 24 時間圧迫を持続する。然る後、ゴム球内容を全部排除して圧迫を除く。この様に処置したネコを一応「亜急性性脳損傷ネコ」と名付ける。

その後 24 時間~48 時間頃を peak として著明な脳浮腫が発生する。この様に処置したネコを一応「脳浮腫ネコ」と名付ける。

#### c) 急性脳損傷ネコの作製方法。

脳波が Stage 4 の点に達するまで脳圧迫を続け、更にその際要した注入量の 10 % 程度の量を追加注入する。そして直ちにゴム球内容を排除し、呼吸停止を来たしたものには人工呼吸を施す。このまま呼吸停止あるいは痙攣発作をおこして死亡する動物も多いが、自発呼吸を恢復し、反射や意識の状態が或程度回復して生きのびたものを一応「急性脳損傷ネコ」と名付ける。

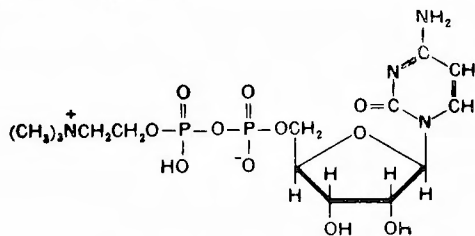
#### 2) 脳損傷ネコの病態生理学的及び組織学的検索

脳浮腫ネコについて、症状の変化及び脳波の変化を時間的に追求した。又、剖検により得られた損傷脳の病理組織学的変化を、ヘマトキシリン・エオジン染色、Klüver-Barrera 氏染色、八代氏髄鞘染色、墨汁注入法等によつて追求した。同じ試料を用いて、協同研究者小沢は生化学的研究を行なつた。

### 3) 亜急性性脳損傷ネコに対する Cytidine nucleotide の効果についての検索

亜急性性脳損傷ネコ、即ち24時間目に脳圧迫を解除した後、更に約3時間を経て動物の一般状態が一応安定したところで、これを脳研式脳定位手術台に固定し、更に動物を脳波記録装置に連結した。一群では圧迫側総頸動脈、一群では外頸静脈を露出し、それぞれ血管内にポリエチレン管を挿入固定し、極少量のヘパリンを注入して管の凝血による閉塞を防いだ。このポリエチレン管を通じて Cytidine nucleotide を注入し、その効果を脳波に示される変化で追求した。又、一部のネコでは、ポリエチレン管固定後動物を無拘束の状態においたまま nucleotide を注入し、意識状態、運動機能、更に behavior の変化を16mm 及び8mm 撮影機で映画に記録しつつ観察した。

Cytidine nucleotide として、Cytidine-diphosphate-choline (CDP-choline) を主に使用し、一部で Cytidine-monophosphate (CMP) を使用した。〔共に武田薬品工業株式会社大阪研究所合成のもので、CDP-choline は同研究所における薬理実験で、マウスは2 gm/kg の投与に耐え、又、cholinergic effect は示さない事が判明している。〕(第3図)



Cytidine diphosphate choline  
第 3 図

4) 急性性脳損傷ネコに対する Cytidine nucleotide の応用と、他の脳外傷治療法の効果との比較—特に長期生存率に及ぼす影響について

急性性脳損傷ネコを使用した。

全例に毎日ペニシリン30万単位を筋注し、72時間目以後は餌を採るようになるまで、毎日総合アミノ酸溶液—Ringer 氏液—5%ブドウ糖液等量混合液を60な

いし80ccづつ非経口的に投与した。

治療法として次に述べるような方法を採用した。治療開始の時期は、臨床患者において受傷直後より治療を開始し得ないという実際の条件や、文献の考慮にもとずき、すべて受傷1時間後と定めた。

対照群；受傷後無作為的に選択した27匹(30匹中ゴム球位置不良等のため3匹を除外した。)を対照群とし、抗生物質投与、輸液等の他は何等処置を施す事なく放置した。

第1群——酸素補給群；Théraptique 15mg の筋注と同時に、酸素 TENT によつて1.5ないし2 l/min. の酸素補給を6時間にわたつて行なつた。10匹。

第2群——低体温群；第1群と同じ操作開始と同時に、lytic cocktail (クロルプロマジン25mg, 塩酸プロメサジン25mg, 塩酸ベチジン12.5mg)をその全量の2/3を筋肉内、1/3を腹腔内にそれぞれ注入し、直ちに動物をビニール布にくるみ、冷却箱内で氷詰にする方法で冷却を開始した。冷却開始後30分ないし1時間で動物の直腸温を30°Cないし28°Cに到らしめ、このまま6時間位体温を維持し、然る後温水バッグを使用し、2時間ないし2時間半の時間をかけて復温した。全経過中、調節呼吸を行なう事はしなかつた。10匹。

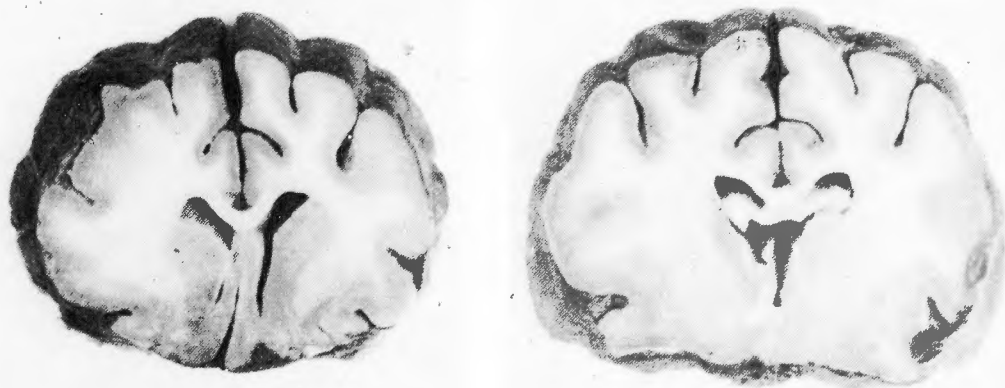
第3群——CDP-choline 単独投与群；第1群と同じ操作開始と同時に、あらかじめ露出しておいた圧迫側総頸動脈に、皮内用注射針を用いて CDP-choline 20 mg/2cc を緩徐に注入した。以後1時間間隔で計3回、合計60mg (15~20mg/kg B. W.) を投与した。10匹。

第4群——CDP-choline + 低体温群；第2群及び第3群に施した治療法を併せて行なつた。10匹。

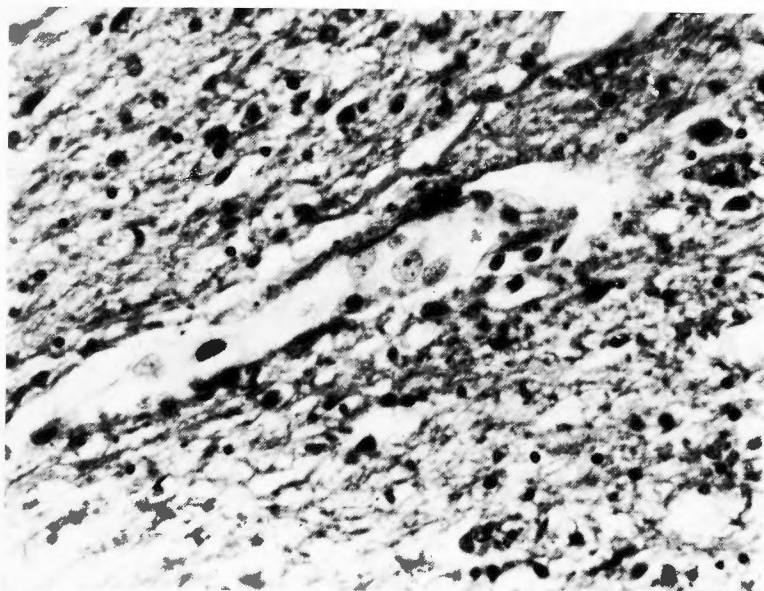
第5群——CDP-choline + 高張糖液投与群；第1群の処置を始めると同時に、CDP-choline 20mg を50%ブドウ糖液5ccに混合し、あらかじめ露出しておいた外頸静脈内に緩徐に注入した。第2回第3回目はそれぞれ1時間おきに CDP-choline 20mg のみを静脈内に注入した。10匹。

以上の各治療処置を行なつた動物が、受傷後何時間生存するかを観察し、各群について生存率の推移をグラフ上に記録し、対照群と比較した。

死亡は、およそ72時間目までは毎6時間、以後毎12時間に観察し、始めて死亡を発見した時間をもつて死亡時間とした。観察期間は、対照群で受傷後1週間生存した動物が、大体2週間後でも生存している事実を参考とし、1週間とした。死亡した動物は全例剖検を行ない、頭蓋内のゴム球が正しい位置に留まつていな



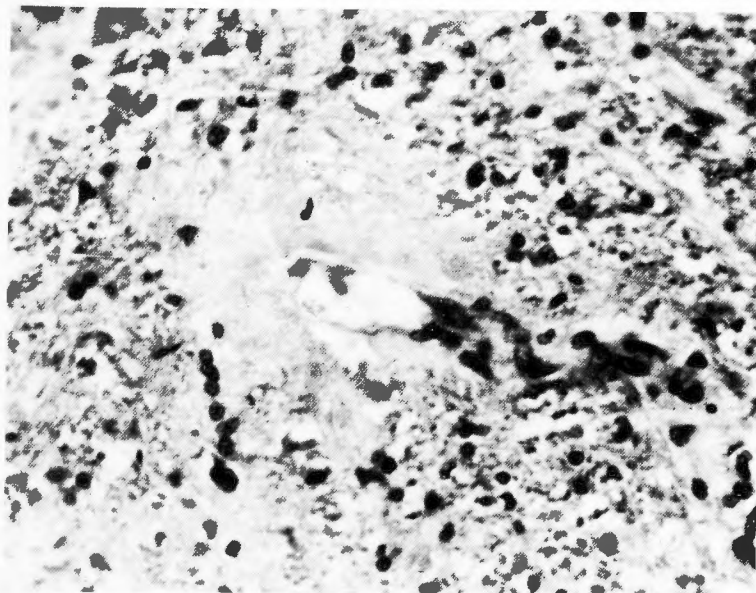
第 4 図 浮腫脳。(右半球に圧迫を加う)



第 5 図

H-E 染色

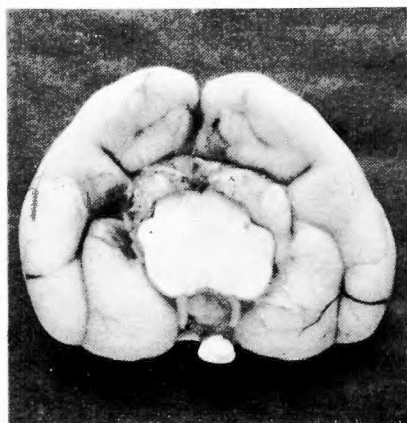
組織の spongy appearance と  
毛細血管内皮細胞の腫張が  
見られる ×150



第 6 図

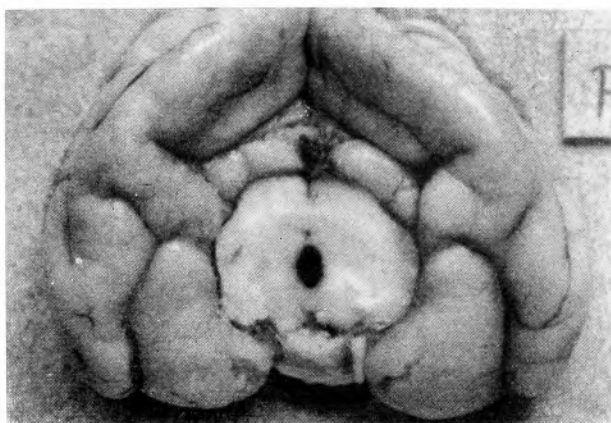
H-E 染色

漿液成分の毛細血管外への  
游出像 ×150



第 7 図

retrosplenic herniation 及び中脳の変形



第 8 図

中脳水道直前の中心線に見られた血腫



第 9 図

ネコ正常脳の墨汁注入例  
A. basilaris からほぼ直角に  
脳実質内に入る動脈枝を示  
す。



第 10 図

急性脳損傷ネコ墨汁注入  
例，脳圧迫のため，脳幹部  
の caudal に向う shift が見  
られる。即ち A. basilaris  
より脳実質内に入る動脈枝  
は caudal に引きのばされて  
いる。

他に retrosplenic hernia-  
tion, tonsillar herniation 及  
び中脳実質内点状出血を認  
める。



いもの、或いは大きな頭蓋内血腫の証明されたもの等は除外する事とした。

治療効果の比較判定には、簡単な統計学的処理—X<sup>2</sup>-test—を行なった<sup>48)</sup>。

## 実験結果

### 1) 脳浮腫および脳損傷ネコの病態生理学的及び病理学的所見。

脳浮腫作製法を23匹のネコに試みたが、20匹において成功、3匹が途中死亡した。

これ等の動物の示す種々の症状は、除圧直前の24時間目で最高となる事が多く、除圧後は次第に恢復して来た。しかしかかる症状恢復の速度はかなり緩徐で、脳圧解除後も動物は無目的な四肢の運動を繰返したり、crouching position をとつたままで経過することが多く、各種の刺激に対して一応は反応するが不活発であつた。

脳圧迫中は、時間の経過と共に脳波の徐波成分が増加し、除圧直前には flat に近い脳波を示す事もあつた。除圧後も48時間から72時間目頃までは、音、閃光、痛み刺激等をあたえる事により、一応いわゆる覚醒波を誘発し得るが、放置するとやはり3～8 c. p. s. の徐波成分を主体とした脳波を示した。

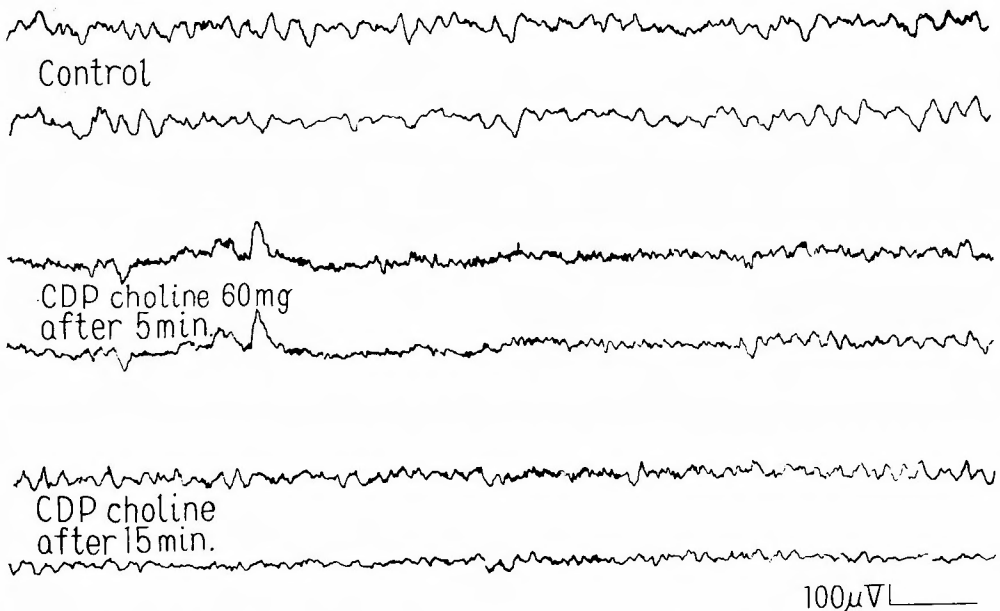
以上の様な諸症状及び脳波上の変化は72時間目頃を境として次第に消失し、1週間ないし10日ではほぼ正常

にもどるのが普通の経過であつた。

浮腫脳は肉眼的には、脳正中線の非圧迫側への偏移、圧迫側における白質容積の増大、及び白質灰白質間の境界不鮮明化等の変化が認められた。(第4図)

組織学的には脳浮腫極期と考えられる48時間目の脳において、H-E 染色で白質における組織の spongy appearance、毛細血管周囲への漿液 或いは血球成分の游出等の変化が、最もしばしば認められた。又、Klüver-Barrera 氏染色により、同じく白質において髄鞘の連珠状腫脹及び断裂、更に染色性の低下等が認められた。これらの変化は centrum semiovale で最も著明であつた。(第5、6図)

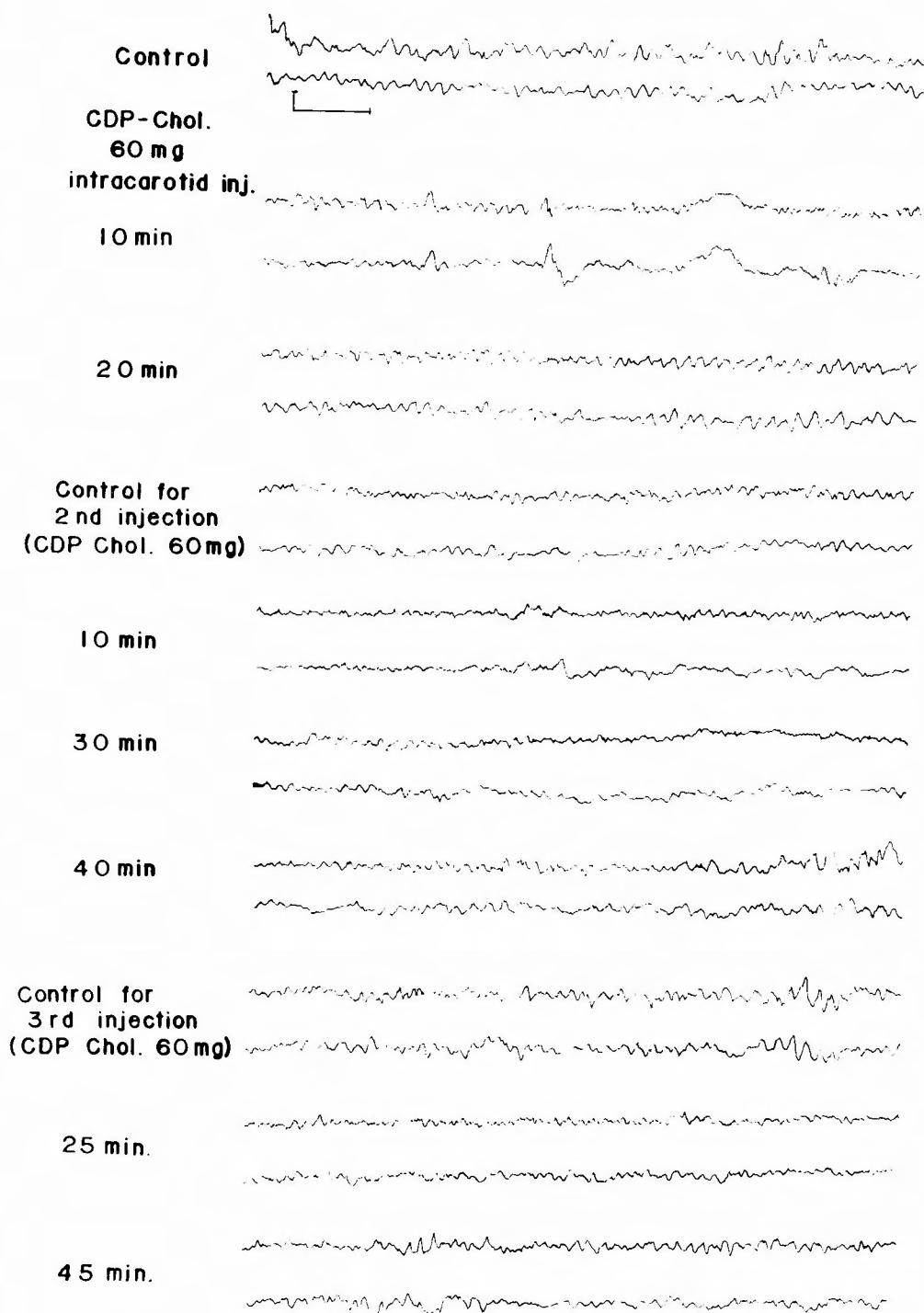
ゴム球直下の白質、灰白質境界部、視床下部、中脳特に中脳水道に接する中心線上に、しばしば点状出血が認められ、かかる出血点の周囲には時に種々の段階の脱髓性変化が認められた(第7、8図)。脳幹部中心線に見られたこの様な点状出血の起源を探るべく、急性脳損傷ネコで、脳圧迫除去後直ちに頸動脈より10%中性ホルマリン液の Perfusion を十分に行なつて脳を頭蓋内で固定し、次いで約200mm Hg の圧で墨汁を同じく頸動脈より注入した。その後脳を取り出し、その正中矢状面を組織学的に検討したが、その結果、脳幹部で A. basilaris からほぼ垂直に正中線に沿つて脳実質内に入るべき動脈枝が著明に caudal の方向に向つて傾斜していた。これは上方からの圧迫による脳の



第 11 図 CDP-choline 頸動脈内投与



## INTRACAROTID INJECTION OF CDP-CHOLINE



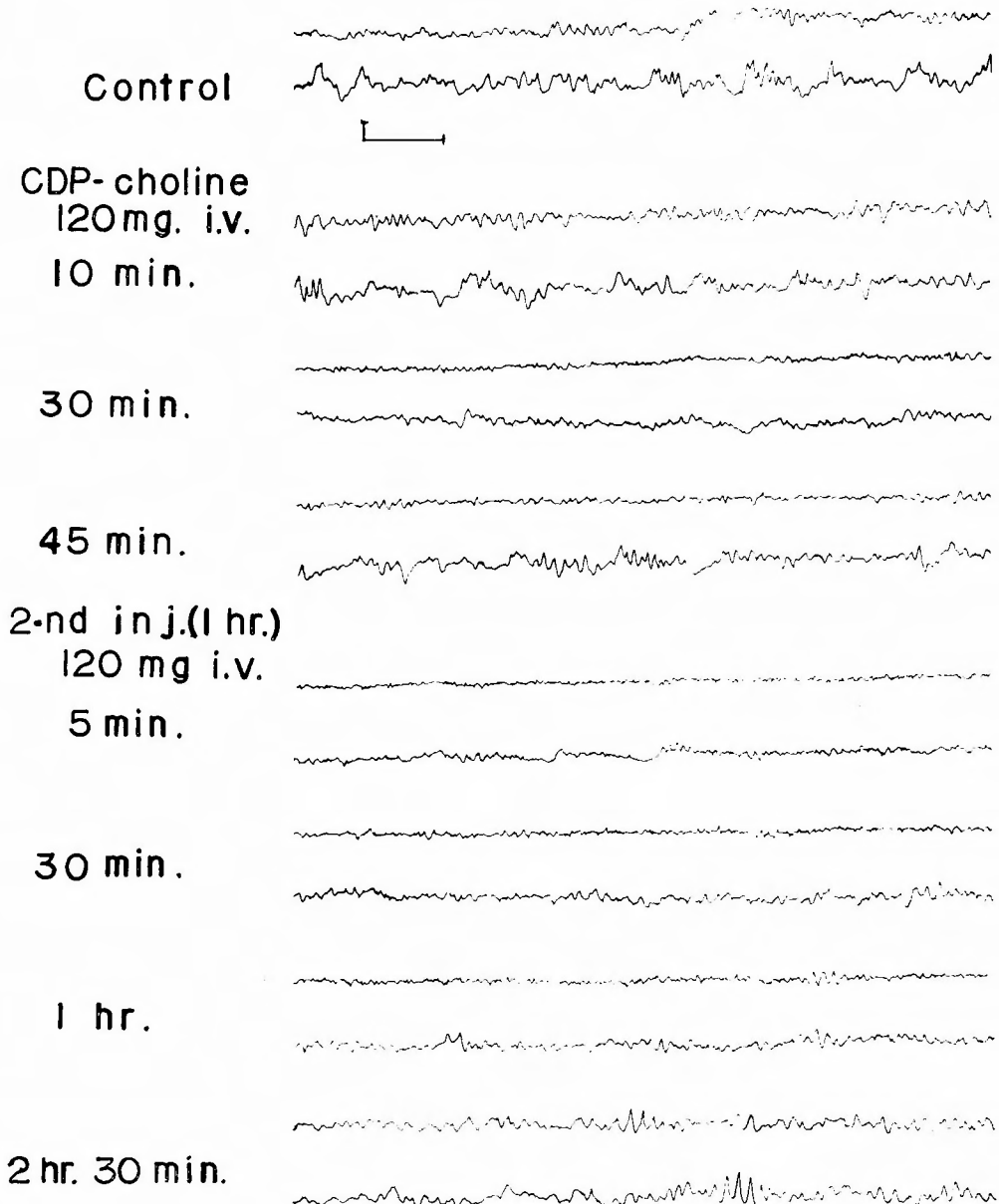
下方移動に伴なつて中脳及び橋で被蓋部が底部に対して著明に caudal の方向にずれる結果である。又視床下部附近では、これ等血管の一部に破綻を来し出血巣を作つている像が認められた。(第9, 10図)

2) 亜急性性脳損傷ネコに対する Cytidine nucleotide の効果.

a) 中等度の意識障害を示す動物に対する効果.

亜急性性脳損傷ネコのうちで、意識障害の程度が、(1) 痛み刺激に対しては、体の一部を動かす程度で活発な逃避運動は行なわない。(2) 横臥或いは croaching position をとり、時に無目的な四肢の運動を繰返す。(3) 位矯正は十分に行ない得ず。(3) 眼瞼反射、角膜反射

## INTRAVENOUS INJECTION OF CDP-CHOLINE



等は大体正常である。(4) 脳波は3~8 c. p. s. 程度の徐波が主体であり、痛み、音、閃光等各種刺激による脳波の賦活効果の持続も大体数秒程度。

この様な動物を用い、CDP-choline 頸動脈内注入、同じく静脈内注入、CMP 頸動脈内注入の三つの方法を行なった。

#### (i) CDP-choline 頸動脈内注入の効果。

6匹の動物に対し、CDP-choline 60mg (約15~20mg/kg) を圧迫側頸動脈内に緩徐に注入し脳波上での効果を追求した。一例を示す。(第11図)

注入後5分ですでに脳波は速波が主体となっており、この状態は15分後でも尚続いている。この間動物は声をあげてなき、更に暴れる等意識のレベルが著明に向上している事が示された。ここで使用された6匹のネコ全例に、大体同じ傾向の変化が認められた。

約1時間の間隔で CDP-choline の反復注入を試みた例では、動物は注入の都度反応し、しかも注入の回数が増えるにつれて、次第により活発になって行く事が判明した。(第12図) しかしながらこの図で示される様に一度の注入による効果の持続時間は通常短かく、ほとんどの動物は注射後40分ないし1時間で脳波も意識障害の程度も大体元の状態にもどってしまった。

#### (ii) CDP-choline 静脈内注入の効果。

3匹のネコで CDP-choline 120mg (30~40mg/kg) を外頸静脈内へ緩やかに注入した。その一例につき脳波

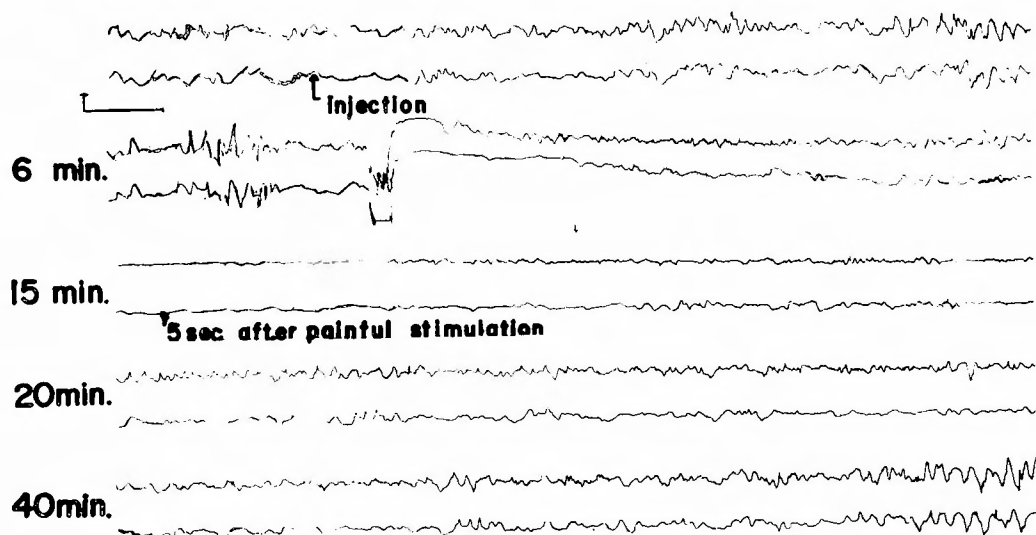
の変化を示す。(第13図)

CDP-choline 頸動脈注入群よりややおくれる様であるが、注射後10分頃より脳波所見の改善があらわれ、速波成分を増して来たが、45分後には再び徐波成分を見る様になった。この時期に CDP-choline の反復注入を行なうと、動物はその都度同じ様な反応を示し、しかも前回注入後よりもより著明な効果が見られ、効果の時間も若干延長する様であった。同じ様な傾向は他の2例においても示された。

次いで別の4匹のネコにおいては、これ等を無拘束の状態においたままで CDP-choline の静脈内注入を行ない、この際示される意識状態、運動機能、更に behavior の変化を、映画に記録しつつ観察した。

注入後約5分、一例では shivering を来すと共に無目的な四肢の屈伸運動を開始、他の一例では横臥したまま体の位置を変えようとし始めた。4例共、刺激特に痛み刺激に対して、四肢をひつこめ或いは横臥したまま位置を変える等、合目的な逃避運動を開始した。約8分後、一例では横臥位から起き上つて crouching position に入り、約10分後には全例共 rightening reflex が正常化して来た。この頃には痛み刺激に対して、hemiplegia の存在にもかかわらず、歩いて逃げたり怒りの表情を示したりした。15分後、痛み刺激に対して、これを払いのけたり術者に咬みついて来る様な態度を示した。20分後には、意識障害や運動機能不全

## EFFECT OF CMP (20 mg. Intracarotid inj.)



第 14 図

は一層著明に改善される傾向を示した。これ等の症状の改善は40分ないし1時間つき、以後 croaching position をとつたり又横臥位をとる等、動物は再び不活潑となつた。

#### iv) CMP 頸動脈内注入の効果。

圧迫側頸動脈内へ CMP 20mg を緩やかに注入し、脳波の変化を追求した。2匹のネコについて実験を行なつたが、その中の一例について述べる。(第14図)

注入前の動物の脳波は3~8 c. p. s. の高振幅徐波を主体とし、drawsy な意識状態を示した。注入後約6分で、ネコは自ら暴れ出し、脳波は低振幅速波を主体とする様に変つて来た。脳波に見られた変化とほぼ並行して意識の状態もかなり著明に改善されたが、やはり40分後には、再びほぼ注入前の状態にもどつた。他の1匹についても同様な効果が観察された。

#### b) 強度の意識障害を示す動物に対する効果。

24時間にわたる脳圧迫の後、種々の刺激特に痛み刺激にほとんど反応せず、一般状態のかなり重篤な亜急性脳損傷ネコ3匹につき、2例は固定台に固定して脳波を記録しつつ、他の1例は無拘束のまま、前の実験群と同様 CDP-choline の投与を試みた。

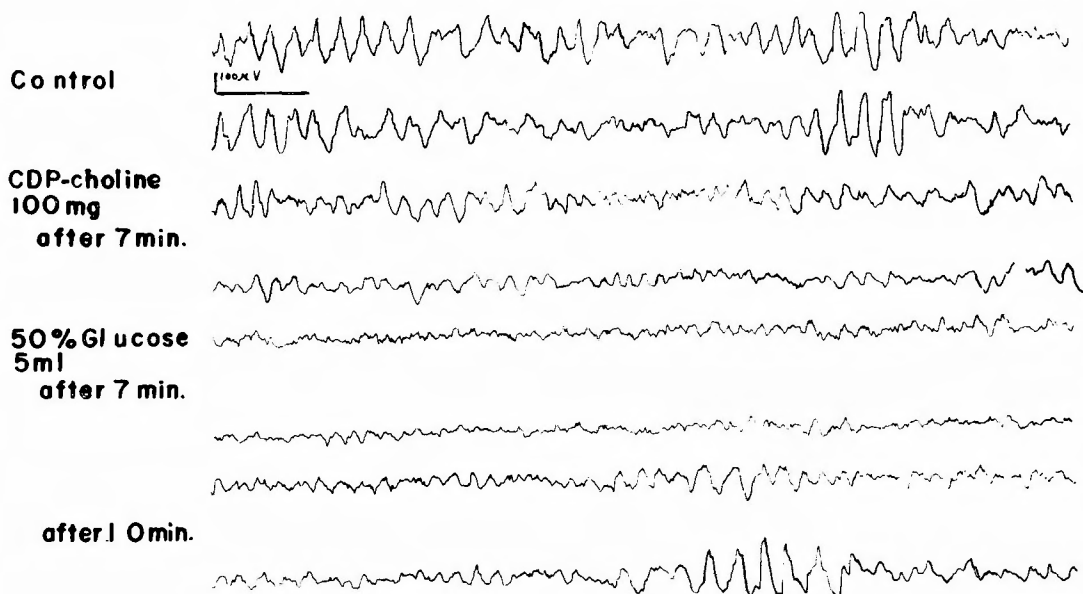
高振幅徐波を主体とし速波成分が全く見られないか、或いはほとんど flat に近い様な脳波を示した動物においては、CDP-choline 100mg の頸動脈注入後も、脳波上及び意識のレベルに関して余りきわだつた改善

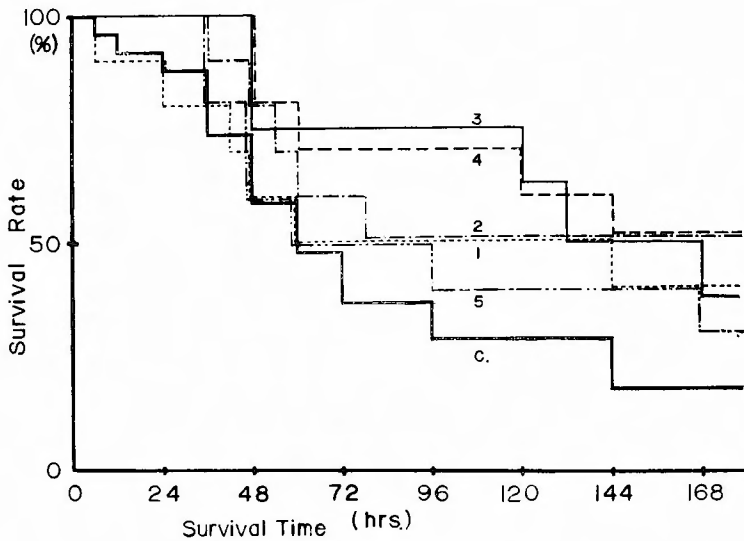
は認められなかつた。しかし、注射前角膜反射眼瞼反射等の全く認められなかつた様な動物で、CDP-choline 注入後これ等が出現したり、或る例では痛み刺激に対する反応が、僅かばかりではあるが陽性となる等、若干の効果を認める事は出来た。(第15図)

3) 急性脳損傷ネコに対する Cytidine nucleotide の応用と、他の脳外傷治療法の効果との比較について 急性脳損傷ネコ計77匹について実験を行なつたが、対照群及び各々の治療群における生存率の推移を第16図に示した。対照群として27匹のネコが使用され、ここでは脳損傷後48時間で41%、96時間で71%、1週間では82%が死亡した。1週間生存したものは5匹であつたが、この中の1匹が8日目に死亡した他は全例2週間生きのびた。この事実から、治療群の生存率観察期間はすべて1週間とした。

治療群中、第3群の動物の中で、1匹では硬膜下、他の1匹では脳実質内にゴム球が誤まつて挿入されていた事が判明したので、統計から除外し、合計8匹についての成績をとつた。

グラフより、(1) 対照群治療群共36時間から72時間にかけての死亡例が多い事。(2) 治療群では、酸素及び Théraptique の投与を行なつただけの第1群で48時間前後までは対照群とほとんど生存率において差を認めないにかかわらず、72時間以後では対照群を上廻つた生存率を示した事。(3) 全経過を通じ低体温法で処



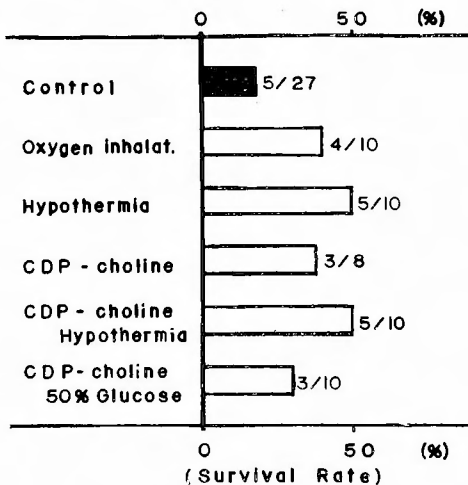


第 16 図 C : 対 照 群

1 : 酸素吸入群      3 : CDP-choline 単独投与群      5 : CDP-choline 及び  
 2 : 低体温群      4 : CDP-choline 及び低体温群      50%ブドウ糖注入群

置した動物、即ち第2群第4群の生存率が良好な事。  
 (4) CDP-choline 単独投与の第3群の生存率も相当高い事。  
 (5) 高張糖液投与群の生存率が低く、対照群と大きな差がない事。等が判明した。

1週間目の生存率を第17図に示す。これによれば、治療群は全て対照群に比較して生存率は高い。しかし統計学的処理を行なうと、危険率を10%以下にとつた時に第2群の低体温群と第4群の CDP-choline + 低体温群において治療の有効性を認めたのみであつた。



第 17 図 1週間後の生存率

## 考 察

動物実験において、頭部外傷及びこれに続発する脳浮腫の病態を追求し、又それ等の治療法に関する検索を行なう場合、外傷の種類、様式或いはその発生機序が、人体例に実際見られる脳外傷のそれと、可能なかぎり似通っている事が望ましい。実験的に脳損傷を作製する方法はいろいろあるが、本実験では荒木<sup>1)</sup>の分類による頭部外傷第IV型にきわめて類似した脳外傷を作る目的で、硬膜外脳圧迫法を使用した。

従来、実験的脳損傷を作製する方法として次の様な種々の試みがなされた。即ち 1) exposure of brain cortex to the air (Prados<sup>40)</sup>), 2) vibration (萩原<sup>17)</sup>), 3) cold injury (Clasen<sup>8)</sup>), 4) mechanical or electrical injury (Bailey<sup>3)</sup>, Caudill<sup>6)</sup>), 5) air pulse injury (Gurdjian et al<sup>7)</sup>), 6) 硬膜外脳圧迫法 (石井他<sup>26), 72)</sup>) 等である。これらのうちで 1) 2) 3) の方法は、その成因が如何にも不自然であり、人間にこの様な形の脳外傷が発生し得るとは考えられない。4) は脳の gross damage を伴うため、例えば生化学的研究を行なう場合不都合である。5) 6) は人間に見られる closed head injury とかなりよく似た成因、症状、経過等を示す事から、合理的な脳外傷の作製法と考えられ、かかる実験動物について脳外傷の病態生理学的、組織学的検索が行なわれて来た。本実験では次の様な理由か

ら硬膜外脳圧迫法を採用する事とした。即ち、この方法は、その成因、症状、病理学的所見等全ての点において人間の頭蓋内出血特に硬膜外血腫と酷似し、しかも脳の gross damage を伴わない事。又頭部外傷による死亡例の半数近くの症例において、その直接の死因として頭蓋内血腫が挙げられており、又頭部外傷の剖検例の70%近くに頭蓋内血腫を認めた報告もある事<sup>31,47)</sup>、しかもこれら患者では、血腫除去手術が行なわれても、必ずしも良好な予後が得られるとは限らず、治療の面でもなお多くの問題を残している事等の理由にもとづいた。

本法を用いる場合、動物にどの程度の脳圧迫を与えるかという点、即ち圧迫の end point の決定に問題がある。Stern<sup>45)</sup> は動物が脳圧迫に耐え得る量と、急激な変化をおこし動物を死に導く様なゴム球容量との境界はきわめて微妙であり、ゴム球容量のごく僅かな増量でも、それが境界点をこえると、あたかも“引き金”を引く如く動物の一般状態は悪化して行くと言う。行井、谷<sup>27)</sup>等は、症状の変化特に呼吸及び瞳孔の変化を参考として end point を決定したが、その結果著明な脳浮腫を発生せしめる為には少なくとも1.4~2.0ccの注入量が必要であるとした。本実験においては、脳圧迫中に見られる脳波上の階段的な変化を利用し、脳波所見から圧迫の end point を決定する事とした。

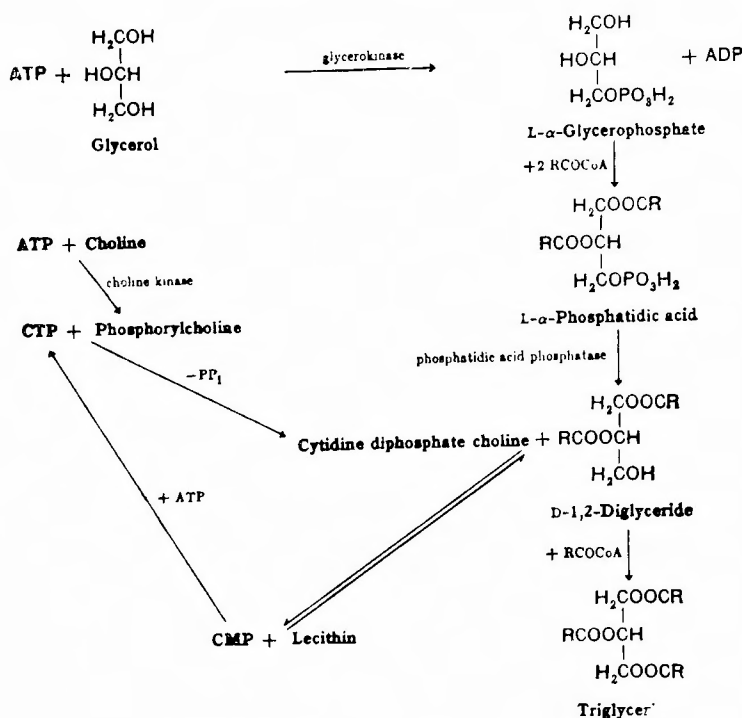
脳圧迫が次第に増強されると、脳波が一定の順序で変化し、これが脳圧の変化と関連性をもつ事は、瀬ノ口<sup>44)</sup>が犬の硬膜下脳圧迫の実験で認めている。彼の実験はネムブータル麻酔下で行なわれ、圧迫につれて徐波が次第に振幅を減じて flat に到るとしたものであるが、この所見は本実験で認めた覚醒ネコに対して行なわれた脳圧迫の際の脳波の pattern とは、やや趣きを異にしている。

Stage 1 及び Stage 2 に見られた様な徐波や紡錘波が脳圧亢進時にも出現する事は Ulett<sup>51)</sup> 其他<sup>9)</sup> 多くの人々により報告されている。通常徐波特に  $\delta$  波の出現は、anoxia、脳循環障害の時に見られるものとされているが、特に頸動脈圧迫によつて誘発される脳波所見は本実験で得られた変化とよく似ている<sup>38), 41)</sup>。しかし一方 Lindsley<sup>37)</sup> が pontomidbrain section, bilateral hypothalamic lesion, thalamic lesion の際認めた脳波や、Gastaut<sup>13)</sup> が中脳被蓋の軟化症、第三脳室腫瘍で認めた脳波所見も、我々の実験動物に認めた脳波所見と類似している。強度の脳圧迫が加わると、しばしば脳幹部等に出血、循環不全その他の病的変化の起る事は本実

験でも確認され、又、Tarlov<sup>49)</sup>、Jannett & Stern<sup>28)</sup>、Thompson<sup>50)</sup>、Howell<sup>20), 21)</sup>、Chason<sup>7)</sup>、Johnson & Yates<sup>30)</sup>等の等しく認める所である。従つて脳圧迫によつて出現する高振幅徐波及び紡錘波は、圧迫の影響が脳幹部に及んだ事を示すものかも知れない。勿論脳浮腫が発生するためには、脳圧迫による局所の機械的損傷や脳全体の循環障害、或いは又脳組織の化学的变化等種々の因子の複雑な組合わせが関与しているものと推定されるが、上に述べた脳幹部の障害例えばこの部の循環障害等の因子が、脳浮腫発生を助長するものかも知れない。石井<sup>25)</sup>が先にゴム球内への注入量が一定量に達すると始めて著明な脳浮腫が発生するに反し、その量よりごく僅かでも減量すると、もはや脳浮腫は発生し難いと述べた事、又、本実験で Stage 1 即ち高振幅徐波や紡錘波の出現を見る点以上の脳圧迫が加えられるのでなければ浮腫の発生は認め難かつた事実等を考え合わせるときわめて興味深い。

先にも述べた様に、小沢<sup>16)</sup>は本実験に使用された亜急性脳損傷動物の脳について種々生化学的検索を行なつたのであるが、圧迫側の脳で磷脂質特に lecithin, cephalin が症状の強さとほぼ並行して低下している事を認めた。即ち一般状態特に意識障害の最も顕著に現われる24時間目の脳で、lecithin 次で cephalin が著明に減少し、脳圧迫解除後症状が次第に恢復するにつれて、lecithin, cephalin も正常値に復する事を知つた。この際、sphingomyelin にはほとんど変化が認められなかつた。一方 Geiger 等<sup>11), 12), 52)</sup>はネコ脳の灌流実験で、ヘパリン加自家血液だけの灌流では長期にわたる脳活性の維持は不可能であつて、約1時間の灌流で脳活性は著明に低下し、それと共に脳磷脂質含有量の低下がおこる事を見出した。しかしこの際、灌流血中に新鮮肝抽出物を加える事によつて脳活性の恢復と磷脂質含有量の増加を認め、この肝抽出物の効果が、Cytidine, Uridine によつて代行される事実を報告した。Kennedy<sup>34)</sup>等の研究によると、Cytidine nucleotide 特に CD P-choline が lecithin 生合成に重要な役割を果たすとされているが、Geiger 等は Cytidine の投与による脳活性の恢復、更に、減少した脳磷脂質の再増加は、この機構で説明し得るものと解釈した。(第18図)

本実験においても亜急性脳損傷ネコに CDP-choline を投与すると、程度は個々の例で異なるにせよ、全ての例で意識を好転させる方向に働き、脳の活性が高められる事がわかつた。特に意識障害の状態が比較的浅い動物では効果は顕著であつた。更に CDP-choline 静



第 18 図

(Kennedy, E. P. Fed. Proc. Balt. 16, 847, 1957)

注の場合でも頸動脈内注入の場合と同様の効果が得られた事は、臨床的応用をより容易にするものと考えられる。

CMP もかなり見るべき効果を示したが、本実験ではあまりこれを使用する機会を得なかつた。

急性脳損傷ネコの作製には亜急性脳損傷の場合におけるより、かなり強い脳圧迫が行なわれた。協同研究者坂本<sup>(33)</sup>は急性脳損傷ネコ作製法とはほぼ同じ様な手技で脳損傷犬を作製し、その病態生理学的所見を追求した。その結果によると、脳圧迫が進み髄液圧がおよそ 700mm H<sub>2</sub>O から 1000mm H<sub>2</sub>O に達すると脳波は flat となる。これより注入量を一定量減じ、約 600~800mm H<sub>2</sub>O の圧で一定時間圧迫を持続した後圧迫を解除すると、髄液圧は一度注入前値附近にもどるが直ちに再び上昇を始める。この二次的の上昇は 5 ないし 6 時間で最高に達し、動物はきわめて重篤な一般状態を示す。N<sub>2</sub>O 法による脳循環諸量の測定では、脳圧迫解除後の 1 ないし 2 時間という外傷後比較的短時間では、脳血流量減少にもかかわらず脳組織の酸素利用率は代償的に上昇し、脳酸素消費量はほぼ正常範囲に留まっている。即ち外傷性影響に対する脳の防禦機構或いは homeostasis の

機構が働いている事がわかる。しかし更に時間が経過し髄液圧が再び著明に上昇した時期になると、酸素消費量は著明に減少しており、脳の代謝障害を推定させる。臨床例においても重症第 IV 型頭部外傷例で、頭蓋内血腫を手術的に除去した後には当然この様な変化が起こり得るものと想像され、急性脳損傷ネコでも大体これに準じた変化がおこっているものと推定される。

急性頭部外傷に対して従来から行なわれて来た治療法は、外傷性ショック、急性頭蓋内圧亢進等に対する対症的処置、更に頭蓋内出血、陥没骨折、頭蓋内異物等の限られた症例に対する外科的治療法等が主体であり、原則的には安静を中心とした保存的療法を施す事に終始した<sup>(1), (15), (18), (22), (32), (46)</sup>。過去においても、脳外傷の病態生理を詳細に追求し新しい積極的な治療法を見出さんとする試みはあつた。例えば Bornstein<sup>(4)</sup>等は脳損傷時髄液内にアセチルコリンが増量し而も臨床症状と平行してこれが消長する事から、atropin 其他の anticholinergic drugs を脳外傷の治療の目的に使用し見るべき効果があつたと報告した<sup>(19)</sup>が、現在ではあまり多くの賛同者を得ていない様である<sup>(1)</sup>。

本実験では上述のいわは対症的な治療法の他に、比



較的新しい治療法と考えられる低体温法, 更に CDP-choline 投与等の治療法を試み, これ等の効果と比較検討してみた。

治療第1群の動物には, まず呼吸促進剤及び酸素吸入のみを行ない, 酸素補給の脳損傷動物に対する治療的意義を知らんとした。

第3群において CDP-choline を使用した理由は, 先にも述べた様に, 本剤の投与が亜急性脳損傷動物の意識障害を著明に改善し得る実験事実に基づいたが, その他に坂本の実験結果も参照した。即ち彼の実験では脳損傷後或る程度時間が経過すると, 脳呼吸商に異常な増減が起る事実が認められた。この様な現象が Laborit<sup>35)</sup> や Adams<sup>2)</sup> 等の指摘する様に, 糖以外の基質の異常代謝, 即ち endogenous substrate の酸化にもとづいて発生するものとすれば, 脳の重要構成成分である磷脂質が脳損傷時に減少する事も或る程度説明し得るし, 又 CDP-choline の投与がかかる磷脂質の異常代謝を是正するかも知れないと考えた事にも基いた。

重症脳損傷に対する低体温法の応用は, 現在最も有効な治療法と信じられている。Rosomoff<sup>43)</sup>, Laskowsky<sup>36)</sup> 等によれば, 特殊な型の脳外傷即ち Cold injury を持つ動物に対し, 低体温法は生命延長の面においても, 病態生理学的及び病理組織学的変化を抑制する面からも有効であり, 外傷後出来るだけ早期に本法を開始する事により一層優秀な治療効果を挙げ得るものとしたが, 本実験でも本法を施行する事により或る程度の効果を挙げ得る事を確認した。

一方 Raimondi<sup>42)</sup> 等は, 同じく脳の Cold injury を用いた実験で, Rosomoff の実験結果と少しく異なり, 低体温法のみでは生存期間の延長だけしか期待出来ず, 生存率向上のためには何か別の方法を附加する必要があると主張し, cortisone の併用が有効である事を報告している。我々も急性脳外傷例に低体温法を施行した臨床経験<sup>23)</sup>から, 低体温法のみでは期待した程大きな治療効果が得られず, 成績をより一層向上せしむるためには, 何か低体温法と並行して行なうべき治療手段の必要な事を痛感している。かかる観点から第4群では, 低体温法と同時に CDP-choline の頸動脈内注入を併用した。

急性脳圧亢進を抑制する目的で, 高張溶液の注入を行う事の可否については, 種々議論のあるところである。従来から広く用いられている方法は, 50%ブドウ糖液, 30%蔗糖液<sup>15)</sup>, 高張デキストラン液, PVP 液, 高張尿素溶液等である。50%ブドウ糖液の使用に関し

ては, その注入終了後, いわゆる rebounding がおこり, 髄液圧が注入前値より更に上昇する事があつてしばしば問題とされる<sup>5), 14), 39)</sup>。高張デキストラン液については, その減圧効果は文献的にも<sup>10)</sup>, 又我々の予備実験の結果からみても必ずしも一定でなく, PVP 液についても, これのみでは効果が弱いとされている<sup>32)</sup>。現在もつとも広く用いられている Osmotherapy は 30%尿素液 1g/kg 程度の静脈内点滴投与で, これにより強力かつ副作用の少ない降圧効果が得られるとされている<sup>29)</sup>。しかし我々の行なつた予備実験では, この条件では動物の血尿が頻発し, 特に低体温法併用群では, 施行した4例全例が血尿の発生を見, 48時間ないし60時間で死亡した, 従つて尿素の使用は中止して, その代りに50%ブドウ糖液を使用した。本実験の意図するところは脳圧迫解除後の二次的な脳圧亢進を, dehydrator の使用によつて抑制し, 脳の循環動態を出来るだけ正常に保つた状態で CDP-choline を作用せしめ, その効果を十二分に発揮せしめんとしたものである。しかし結果はグラフ上に示された通り治療群中最も悪かつた。この原因は現在のところ全く不明であつて, 今後この問題については, より深く検索が進められるものと信ずる。

以上の様に, 生存率より治療効果を観察した結果結論し得る事は次の通りである。

いずれの治療法を施行した場合も, 48時間前後までの死亡率を有効に減少せしむる事は困難であつた。即ちこの時期までは治療群と対照群の生存率の間に有意の差は認められなかつた。しかし対照無処置群が48時間以後も引きつづきはほぼ同じ割合で死亡し, 1週間で約80%強の死亡率を示すのに反し, 48時間ないし72時間目以後の時期においては, 治療群はすべて対称群より良好な生存率を示している。結局 borderline case が種々の治療法によつて救われたものと理解される。

1週間を一応の期限とした観察の結果, 低体温法と, 低体温法に CDP-choline を併用した方法が生存率の上から最もすぐれた効果を挙げ得る事がわかつた。即ち本実験で採用した統計学的処理で, 危険率を10%以下にとつた時, 治療効果の有意性を認めた。

CDP-choline 動脈内注入を行つた二群では, 96時間前後までの生存率がきわめて高かつた。即ち危険率を5%以下にとつても治療効果の有意性を認めた。しかし1週間近くなつて急に死亡率が高まつた。この事に関しては, 頸動脈露出手術の動物に及ぼす悪影響, 例えば手術侵襲そのものの他に, 頸部手術創のための採

餌困難や余分な感染の問題等、複雑な要素が関与しているものと考えられる。この様な点を考慮に入れると、CDP-choline 単独投与による治療効果はかなり高く評価し得るものと信ずる。

かくの如く脳外傷の新しい治療法として CDP-choline を臨床的に応用し得る可能性は十分あり、又実際少数ながら臨床例に使用した経験を持つているが<sup>24)</sup>、現在の段階ではその作用持続時間を延長せしめる事が最も大きな課題であろうと思われる。この様な問題を含めて CDP-choline の臨床例における治療成果について、近い将来報告し得るものと信ずる。

## 結 語

頭部外傷及びこれに続いて発生する脳浮腫に対する適切な治療法を発見する目的で本研究を行なった。従来より行なわれて来たネコの硬膜外脳圧迫法に脳波を導入し、ほぼ一定の強さの脳損傷を恒常的に作製する事に成功した。脳損傷動物についての病態生理学的並びに病理組織学的な検討を加えたが、特にその生化学的分析から脳磷脂質と脳活性との密接な関係が明らかにされ、lecithin 生合成の補酵素たる CDP-choline を脳損傷動物の治療に応用する試みがなされた。

亜急性脳損傷ネコに CDP-choline を投与した結果、頸動脈注入静脈注入何れの場合も、意識障害ならびに脳波の状態が著明に改善される事が判明した。特に中等度の意識障害を示す動物では、CDP-choline の効果は劇的であった。

急性脳損傷ネコに対して受傷後早期に CDP-choline の投与を試み、その効果を従来から行なわれている種々の脳外傷治療法の効果と比較検討した。即ち、CDP-choline 単独投与、CDP-choline + 低体温法、CDP-choline + 高張溶液静注法、及び低体温法、酸素補給法等の治療法が行なわれた。1週間にわたる生存率の観察から、1週間後では低体温法、CDP-choline + 低体温法が最もすぐれた効果を示し、途中の経過から CDP-choline 単独投与法でもかなりの効果を期待出来る事がわかった。

これ等の諸結果より、CDP-choline が、将来頭部外傷の有効な治療法として使用し得る事の可能性について述べた。

稿を終るにあたり、荒木千里教授、石井昌三講師の全てにわたる御懇切な御指導に深甚の謝意を表します。又、御協力いただいた谷栄一、小沢和恵、坂本宏

諸先生及び吉田洋子嬢、並びに武田薬品工業株式会社に深く感謝致します。又、多くのネコ達の霊の安からん事を祈ります。

## 文 献

- 1) 荒木千里：頭部外傷。日本外科全書。金原及南江堂。昭29。
- 2) Adams, J.E. : Cerebral metabolic studies on the human during total cerebral arterial occlusion and hypothermia. J. neurosurg, 18, 168, 1961.
- 3) Bakay, L. : Studies on blood-brain barrier with radioactive phosphorus. Arch. neurol. psychiat, 73, 2, 1955.
- 4) Bornstein, M. B. : Presence and action of acetylcholine in experimental brain trauma. J. neurophysiol. 9, 349, 1946.
- 5) Browder, J. : Danger of use of hypertonic solution in the treatment of brain injuries. Am. J. Surg., 8, 1213, 1930.
- 6) Caudill, C. M. : Experimental studies of the effect of coagulating currents upon the brain. J. neurosurg. 8, 423, 1951.
- 7) Chason, J. L. : Alteration in cell structure following sudden increased intracranial pressure. J. neuropath. exp. neurol. 16, 102, 1957.
- 8) Clasen, R. A. : The production by liquid nitrogen of acute closed cerebral lesions. Surg. Gyn. Obst., 96, 605, 1958.
- 9) Clasen, R. A. et al : Cerebral edema and electroencephalographic changes after acute closed cerebral injury. Arch. neurol. psychiat, 80, 696, 1958.
- 10) Clasen, R. A. et al : Treatment of experimental cerebral edema with intravenous hypertonic glucose, albumin and dextran. Surg. Gyn. Obst., 107, 591, 1957.
- 11) Gastaut, H. : The brain stem and cerebral electrogenesis in relation to consciousness. Brain Mechanism and Consciousness. (Delaferrière, J. F.) Blackwell, Oxford, 1956.
- 12) Geiger, A. et al : Cytidine and uridine requirement of the brain, J. neurochem, 1, 93, 1956.
- 13) Geiger, A. : Metabolism of the Nervous System. (Richter, D.) Pergamon Press. 1957.
- 14) Graff, R. A. : Management of war wound of the cranial cavity. Am. J. Surg., 72, 434, 1946.
- 15) Gurdjian, E. S. and Webster, J. E. : Head Injuries. Little Brown Co. Boston, 1958.
- 16) 早石 修, 小沢和恵他：脳外傷及脳浮腫の生化学。日新医学, 48, 519, 1961.
- 17) 萩原 徹他：実験的脳浮腫作製法に関する一考

- 察(電動式硬膜外振動法) 京府医大誌, **69**, 803, 1961.
- 18) 星野 列: 頭部外傷の臨床. 外科治療, **2**, 790, 1960.
- 19) Heppner, E. : Das traumatische Hirnödeme und seine Behandlung. Wien. Klin. Wschr, **70**, 789, 1958.
- 20) Howell, D. A. : Upper brainstem compression and foraminal impaction with intracranial space occupying lesions and brain swelling. Brain, **82**, 525, 1959.
- 21) Howell, D. A. : Longitudinal brainstem compression with buckling. Arch. neurol. **4**, 116, 1961.
- 22) 石井昌三: 頭部外傷急性期の治療. 外科治療, **3**, 756, 1960.
- 23) 石井昌三: 頭部外傷, 脳損傷に対する低体温法の治療的意義. 日外会誌, **63**, 13, 1962.
- 24) 石井昌三他: 脳外傷昏睡に対する核酸誘導物質の応用. 日外会誌, **63**, 1013, 1962.
- 25) 石井昌三: personal communication.
- 26) Ishii, S. et al. : Studies on cerebral swelling. J. neurosurg. **16**, 152, 1959.
- 27) Ishii, S. and Tani, E. : Electron microscopic study of the blood-brain barrier in brain swelling. Acta neuropatholog. **1**, 474, 1962.
- 28) Jannett, W. R. and Stern, W. E. : Tentorial herniation. J. neurosurg, **17**, 598, 1960.
- 29) Javid, M. : Urea-new use of old agent : Reduction of intracranial and intraocular pressure. S. clin. North American, **38**, 907, 1958.
- 30) Johnson, R. T. and Yates, P. O. : Brain-stem haemorrhages in expanding supratentorial conditions. Acta radiol. Stockh. **46**, 250, 1956.
- 31) 叶沢竜一: 頭部外傷に関する研究. 日外宝画, **30**, 591, 1961.
- 32) 喜多村孝一: 頭部外傷の治療. 外科治療, **2**, 796, 1960.
- 33) 近藤祐之, 坂本 宏: 治療的低体温法の作用機序及び治療効果について. 脳と神経, **14**, 1099, 1962.
- 34) Kennedy, E.P. : Biosynthesis of phospholipids. Fed. Proc. Balt, **16**, 847, 1957.
- 35) Laborit, H. : 侵襲に対する生体反応とショック. 最新医学社, 1956.
- 36) Laskowsky, E.J. et al. : Experimental studies of effects of hypothermia on local brain injury. Neurology, **10**, 499, 1960.
- 37) Lindsley, D. B. et al. : Effect upon the EEG of acute injury to the brain stem activating system. EEG. clin. neurophysiol, **1**, 475, 1949.
- 38) Loeb, C. : Effect of alternate carotid compression in aged and apparently normal subjects. Cerebral Anoxia and the Electroencephalogram. (Mayer, J. S. & Gastaut, H.) Charles C. Thomas. Springfield Ill. 1961.
- 39) Masserman, J.H. : Cerebrospinal hydrodynamics. Arch. neurol. psychiat, **35**, 96, 1936.
- 40) Prados, M. et al. : Studies on cerebral edema. Arch. neurol. psychiat, **54**, 163, 1945.
- 41) Pruvot, P. et al. : Result of the unilateral carotid compression test in a series of normal young adults. Cerebral Anoxia and the Electroencephalogram. (Mayer, J. S. & Gastaut, H.) Charles C. Thomas. Springfield Ill. 1961.
- 42) Raimondi, A. J. et al. : The effect of hypothermia and steroid therapy on experimental cerebral injury. Surg. Gyn. Obst., **108**, 333, 1959.
- 43) Rosomoff, H. L. et al. : Experimental brain injury and delayed hypothermia. Surg. Gyn. Obst., **110**, 27, 1960.
- 44) 瀬ノ口敬介: 急性脳圧迫時の脳波的研究. 熊本医学雑誌, 33補4, 1161, 1959.
- 45) Stern, W.E. : Studies in experimental brain swelling and brain compression. J. neurosurg, **16**, 676, 1959.
- 46) Symond, C. : Concussion and contusion of brain and their sequelae. Injury of the Brain and Spinal Cord. (Brock, S.) Springer Pub. Co. N. Y. 1960.
- 47) 滝幸久: 法医学解剖頭部外傷例の外科学的観察. 日外宝, **28**, 1278, 1959.
- 48) 寺田一彦: 推測統計法. 朝倉書店, 昭29.
- 49) Tarlov, I. M. et al. : Acute intracranial hypertension. Arch. neurol, **1**, 17, 1959.
- 50) Thompson, R.K. et al. : Dynamic axial brainstem distortion as a mechanism explaining the carotid respiratory changes in increased intracranial pressure. J. neurosurg, **16**, 664, 1959.
- 51) Ulett, G. : Electroencephalogram of dogs with experimental space occupying intracranial lesions. Arch. neurol. psychiat, **54**, 141, 1945.
- 52) 山崎晴一郎: 脳の機能と代謝. 最新医学, **14**, 1314, 1959.